



*Ministero del Lavoro, della Salute
e delle Politiche Sociali*

DIPARTIMENTO PER LA SANITÀ PUBBLICA VETERINARIA, LA NUTRIZIONE E LA
SICUREZZA DEGLI ALIMENTI
Segretariato Nazionale Della Valutazione Del Rischio Della Catena Alimentare

COMITATO NAZIONALE PER LA SICUREZZA ALIMENTARE

PARERE N. 3 DEL 22/04/2009

Listeria monocytogenes nei formaggi

Sommario

| | |
|-------------------------------------|----|
| Inquadramento | 1 |
| Valutazione del pericolo | 2 |
| Stima dell'esposizione | 6 |
| Caratterizzazione del rischio | 11 |
| Conclusioni | 13 |
| Bibliografia | 15 |

Inquadramento

A seguito della nota della Direzione Generale della Sicurezza degli Alimenti e della Nutrizione, Ufficio III (Ministero della Salute 0017512-P-12/06/2008 DGSAN), il Segretariato Nazionale della Valutazione del Rischio della catena alimentare ha richiesto un parere al Comitato Nazionale per la Sicurezza Alimentare (CNSA) in merito alla presenza di *Listeria monocytogenes* (*L. m.*) nei formaggi.

Il CNSA nella seduta del 17 luglio 2008 ha incaricato la Prof. Maria Luisa Cortesi di redigere una relazione preliminare riguardante la valutazione del rischio *Listeria monocytogenes* nei formaggi.

I dati di contesto di maggior rilevanza appaiono i seguenti:

1. il genere *Listeria* comprende sei specie. *Listeria monocytogenes* è un batterio Gram positivo, non sporigeno, a forma di bastoncino, con tendenza al pleomorfismo. Mobile a 25°C, grazie a flagelli peritrichi, è catalasi positivo; non attacca la gelatina; non idrolizza

- l'urea; è beta-emolitico; fermenta glucosio, maltosio, esculina e salicina per via omofermentativa; non attacca mannitolo e xilosio; idrolizza l'arginina; non riduce i nitrati; non produce indolo dal triptofano né H₂S dalla cisteina; riduce il tellurito allo 0,05%;
2. le caratteristiche fisiologiche di *L. m.* consentono al microrganismo di sopravvivere e, sia pure in misura ridotta, di moltiplicare anche in condizioni ambientali sfavorevoli per altri patogeni (pH fino a 5,0, concentrazioni di NaCl fino al 10%, temperature di +2°/+4°C o anche inferiori), il che rende la sua presenza particolarmente preoccupante negli alimenti pronti [*ready-to-eat* (RTE)], per i quali, inoltre, i produttori possono fissare una lunga durata di conservazione (*shelf-life*);
 3. la sua capacità di produrre rapidamente biofilm le permette di sopravvivere a lungo, anche fino a 10 anni, negli stabilimenti di produzione degli alimenti (Cataldo et al. 2007; Swaminathan et al. 2007);
 4. la Direttiva 2003/99/CE del 17 novembre 2003 sulle misure di sorveglianza delle zoonosi e degli agenti zoonotici, recante modifica della decisione 90/424/CEE del Consiglio e che abroga la direttiva 92/117/CEE del Consiglio;
 5. il Regolamento (CE) n. 2160/2003 del 17 novembre 2003 sul controllo della Salmonella e di altri agenti zoonotici specifici presenti negli alimenti;
 6. la nota ministeriale n. DGVA/IX/3597/p del 2 febbraio 2005 “misure di controllo per *Listeria monocytogenes* nei prodotti a base di latte con esclusione di gelati a latte alimentare”;
 7. il Regolamento (CE) n. 2073/2005 del 15 novembre 2005 sui criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari.

Valutazione del pericolo

Caratterizzazione della Listeria

Il genere *Listeria* comprende sei specie. I casi umani sono causati quasi esclusivamente da *Listeria monocytogenes* (*L. m.*), anche se esistono occasionali segnalazioni in letteratura di infezioni nell'uomo provocate da altre specie. Alcune specie di *Listeria* sono considerate innocui saprofiti ambientali, anche se strettamente correlate con *L. m.*

Numerose ricerche hanno dimostrato che *Listeria spp.*, in genere, e *L. m.* in particolare, possono rinvenirsi in numerose specie animali, selvatiche e domestiche, soprattutto pecore, capre, bovini, alpaca e molti uccelli. In questi animali il batterio provoca particolari malattie, come la “malattia della corsa in cerchio” delle pecore e la mastite dei bovini. Una volta guariti, gli animali possono rimanere portatori asintomatici e continuare ad eliminare *L. m.* con le feci ed il latte. Non sorprende pertanto di trovare così spesso il microrganismo nel terreno, nel fango, nelle acque superficiali e nella vegetazione. Si ritrova anche nei foraggi insilati dove sia impedita/rallentata la fermentazione lattica.

Per quanto concerne l'uomo *L. m.* fu inizialmente identificata come causa di aborto nei primi mesi di gravidanza, parto di feti morti e setticemia dopo un parto regolare. Più tardi si è dimostrato che *L. m.* poteva provocare casi di listeriosi neonatale o materno-fetale, di setticemia e di meningoencefalite e che l'infezione poteva riscontrarsi in soggetti adulti di entrambi i sessi. Nella maggior parte dei casi riguardava soggetti sottoposti a trapianti o comunque debilitati (immunodepressione, diabete, alcolismo, malattie epatiche e renali, tossicodipendenza) ma casi di listeriosi sono stati successivamente osservati anche in soggetti sani.

Differenze nella virulenza dei ceppi possono influenzare l'infezione e l'esito clinico. I sierotipi 1/2a, 1/2b, 1/2c, 4b sono quelli isolati più frequentemente dagli alimenti e dagli ambienti di produzione, su superfici, a contatto e non, con gli alimenti (Maslow et al. 1993;

Pintado et al. 2000; Delgado da Silva et al. 2001; Waak et al. 2002; Chambel et al. 2007; Conter et al. 2007; Swaminathan et al. 2007; Denny et al. 2008; Lomonaco et al. 2009).

Il 95% delle infezioni umane è comunque causato da tre sierotipi: 1/2a, 1/2b e 4b, con una netta prevalenza di quest'ultimo, soprattutto nei casi di meningoencefalite, il che potrebbe indicare che esso sia più virulento degli altri. I sierotipi 1/2a e 1/2b sono più spesso isolati nei casi di gastroenterite, caratterizzati da periodi di incubazione più brevi e da concentrazioni più elevate di *L. m.*, come riscontrato nei casi in cui è stata effettuata la ricerca quantitativa dall'alimento. Il lungo periodo di incubazione delle forme invasive, anche superiore a 30gg, è un fattore che ostacola le indagini epidemiologiche (Swaminathan et al. 2007).

La caratterizzazione fenotipica e genotipica di *L. m.* continua ad essere oggetto di diversi studi, volti anche allo sviluppo di metodiche affidabili, rapide e riproducibili, in grado di identificare il microrganismo in maniera tale da poter essere di ausilio nelle indagini epidemiologiche. Ciascun metodo presenta insieme vantaggi e svantaggi. Elettroforesi classica o in campo pulsato, polimorfismo dei frammenti di restrizione dopo ibridazione con una sonda (ribotipizzazione), RAPD (Random Amplification Polymorphic DNA), REA (Restriction Enzyme Analysis), PCR sono alcuni esempi delle metodiche più frequentemente applicate. Numerosi ricercatori hanno utilizzato l'elettroforesi in campo pulsato (PFGE), effettuando o tentando di effettuare anche correlazioni fra genotipi e sierotipi (Maslow et al. 1993; Brosch et al. 1994; Brosch et al. 1996; Delgado da Silva et al. 2001; Waak et al. 2002; Manfreda et al. 2005; Chambel et al. 2007; Denny et al. 2008). Dai lavori emerge spesso che la contaminazione crociata in fase di produzione e commercializzazione svolge un ruolo importante nell'incidenza e nella diversità dei tipi individuati e che nelle indagini epidemiologiche è necessario caratterizzare molti ceppi isolati dall'alimento incriminato.

Altri studi riguardano la resistenza agli antibiotici. Uno studio riguardante l'antibiotico-resistenza di 120 ceppi di *L. m.* isolati da alimenti, anche se non da formaggi, e da ambienti di lavorazione ha dimostrato che i ceppi sono sensibili agli antibiotici comunemente usati per il trattamento della listeriosi in campo umano e veterinario (Conter et al. 2009).

Nel Community Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents, Antimicrobial Resistance and Foodborne Outbreaks in the European Union in 2006 [The EFSA Journal (2007) 130], redatto congiuntamente dall'European Food Safety Authority (EFSA) e dall'European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), sono stati raccolti ed esaminati i dati forniti da 24 Paesi Membri e da 6 Paesi extracomunitari. Da questo Report emerge che nell'UE le zoonosi interessano ogni anno oltre 350.000 persone.

Le campilobatteriosi, nonostante la lieve diminuzione registrata nel 2006 (175.000 casi umani rispetto ai 195.426 accertati nel 2005), si sono confermate le più frequenti malattie zoonosiche. Per quanto il numero di infezioni da *Salmonella* sia in diminuzione da tre anni, questa zoonosi resta la seconda per importanza numerica nell'UE, con 160.649 casi confermati nel 2006, rispetto ai 173.879 del 2005. Il numero dei casi di listeriosi è aumentato significativamente nel corso degli ultimi 5 anni e nel 2006 sono stati confermati 1.583 casi umani. L'attenzione nei riguardi di questa zoonosi è comunque conseguente non tanto al numero dei soggetti colpiti quanto piuttosto alla gravità della malattia e all'elevato tasso di mortalità, che, sempre nel 2006, è stato del 14,2%. La malattia continua ad essere associata alla gravidanza e ad individui che soffrono di malattie che compromettono il sistema immunitario, quali il cancro e l'HIV, ma, a partire dal 2000, in parecchi paesi dell'UE è stato osservato un incremento di casi in individui di età superiore ai 60 anni. In particolare il 56% delle infezioni da *Listeria* ha interessato persone di età superiore ai 65 anni. Oggetto di attenzione devono essere soprattutto gli alimenti ready-to-eat (RTE), ed in particolare i prodotti a base di pesce e i formaggi, per i quali più spesso sono stati riscontrati livelli di *L. m.* superiori ai limiti fissati dal Reg. CE 2073/2005 (modificato da ultimo dal Reg. CE 1441/2007) sui criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari.

Di recente, a seguito di una richiesta della Commissione Europea, lo Scientific Panel on Biological Hazards (BIOHAZ) dell'European Food Safety Authority (EFSA) ha rivisto e

aggiornato l'opinione dello SCVPH sui rischi correlati alla presenza ed alle concentrazioni di *L. m.* negli alimenti RTE ed ha raccomandato e/o ribadito l'adozione di alcune misure nelle fasi di produzione e di consumo e la necessità sia di investigare in modo più completo sui casi di listeriosi sia di produrre ed analizzare i dati sui livelli di consumo dei RTE nell'UE.

Gli studi effettuati hanno permesso di individuare correlazioni non solo con le differenti tipologie di alimenti ma anche con il tipo di packaging, le modalità di preparazione (es. utilizzo di affettatrici), le temperature di stoccaggio, il momento del campionamento rispetto alla data di scadenza o al termine minimo di conservazione, il livello di applicazione del sistema HACCP e di formazione del personale.

E' stato ad esempio dimostrato quanto possano variare le temperature nel corso della vendita al dettaglio, ed ancora di più a livello domestico, livello al quale è collegato il 59,7% dei casi umani di listeriosi. Per questo motivo è stato suggerito di migliorare la catena del freddo a livello domestico e di informare adeguatamente, particolarmente le persone anziane, sulle modalità di conservazione degli alimenti, e di quelli RTE in particolare.

Sono state individuate tre categorie di RTE, in base 1) alla loro destinazione a consumatori particolarmente sensibili (alimenti pronti per lattanti e alimenti pronti a fini medici speciali); 2) alla loro capacità di rappresentare un terreno favorevole alla crescita di *L. m.* (alimenti pronti che costituiscono terreno favorevole alla crescita di *L. m.*) e 3) alla loro incapacità di rappresentare un terreno favorevole alla crescita di *L. m.* (alimenti pronti che non costituiscono terreno favorevole alla crescita di *L. m.* diversi da quelli destinati ai lattanti e a fini medici speciali).

Le aziende che producono o utilizzano gli alimenti che risultano essere più spesso all'origine di queste malattie alimentari, come pure le autorità competenti, devono trarre da questi recenti aggiornamenti ed osservazioni indicazioni utili per programmare/integrare/modificare i controlli di loro specifica competenza e per valutare correttamente i prodotti in entrata e in uscita, con particolare riguardo a quegli alimenti che non necessitano di adeguato riscaldamento o cottura prima del consumo, che sono soggetti a contaminazioni successive alla produzione o che non posseggono caratteristiche fisico-chimiche in grado di ostacolare la crescita e la moltiplicazione dei microrganismi nel corso della loro shelf-life.

Il produttore deve tenere in debito conto queste recenti acquisizioni scientifiche ed epidemiologiche, in quanto il Reg. 2073/2005 specifica che "Gli operatori del settore alimentare provvedono a che i prodotti alimentari siano conformi ai relativi criteri microbiologici fissati nell'allegato I del presente regolamento. A tal fine... adottano provvedimenti, in ogni fase della produzione, della lavorazione e della distribuzione, inclusa la vendita al dettaglio, per garantire che... b) i criteri di sicurezza alimentare applicabili per l'intera durata del periodo di conservabilità dei prodotti possano essere rispettati a condizioni ragionevolmente prevedibili di distribuzione, conservazione e uso... Se necessario.... effettuano studi, in conformità all'allegato II, per verificare se i criteri sono rispettati per l'intera durata del periodo di conservabilità. In particolare ciò si applica agli alimenti pronti che costituiscono terreno favorevole alla crescita di *L. m.* e che possono costituire un rischio per la salute pubblica in quanto mezzo di diffusione di tale batterio."

In base al Reg. 2073/2005 i prodotti con $\text{pH} \leq 4$ o $a_w \leq 0,92$, i prodotti con $\text{pH} \leq 5$ e $a_w \leq 0,94$ e i prodotti con un periodo di conservabilità inferiore a 5 giorni sono automaticamente considerati appartenenti alla categoria 3, per quanto altri tipi di prodotti possano appartenere a questa categoria, purché vi sia una giustificazione scientifica.

La gestione del rischio è stata affrontata in maniera diversa a livello internazionale. Nell'UE i valori massimi tollerati per questo microrganismo negli alimenti sono riportati nell'allegato I del Reg. 2073/2005 quali criteri di sicurezza alimentare e, come tali, devono essere rispettati per tutto il periodo di conservabilità dell'alimento, sia esso espresso come "da consumarsi entro" o come "da consumarsi preferibilmente entro".

E' stato comunque ulteriormente ribadito che i controlli microbiologici rappresentano solo uno degli strumenti disponibili per assicurare che alimenti RTE non rappresentino un rischio per il consumatore. L'applicazione delle GMP, unitamente ai principi del sistema HACCP, sono fondamentali per ridurre la contaminazione nella fase di produzione e in quelle successive in quanto è da considerare che ogni tipologia di alimento potrà consentire la moltiplicazione di *L. m.* nel momento in cui, in una qualsiasi fase della produzione e della commercializzazione, vengano ad essere modificati i parametri in base ai quali è stata definita la sua sicurezza nei confronti del microrganismo.

Un aspetto critico relativo al controllo di questo microrganismo lungo le filiere di produzione degli alimenti, e quindi anche dei formaggi, è la sua ubiquitarietà. Questa caratteristica rende difficile la sua eliminazione dal caseificio in quanto numerose sono le nicchie adatte alla sua sopravvivenza. Nel caso dei formaggi le possibilità di contaminazione ambientale dei prodotti sono da porre in relazione con il tipo di prodotto e le sue caratteristiche chimico-fisiche, ivi comprese quelle della crosta, la cui microflora svolge un ruolo importante per la maturazione e la caratterizzazione dei prodotti ma può anche favorire od inibire l'insediamento di *L. m.* E' stato osservato che la pulitura della crosta può portare ad esiti contraddittori: questa pratica potrebbe essere veicolo di contaminazione crociata tra lotti diversi di prodotto ed inoltre l'eliminazione di una flora saprofitica competitiva potrebbe determinare un aumento del rischio di ricontaminazione da parte di microrganismi ubiquitari ed opportunisti come la stessa *L. m.*

Stima dell'esposizione

Dati nazionali

I dati nazionali, pubblicati o forniti dalla Direzione Generale della Sicurezza degli Alimenti e della Nutrizione (DGSAN), sono per lo più qualitativi, riportano cioè risultati relativi alla presenza/assenza del microrganismo nei locali di lavorazione, sulle attrezzature, nella pasta e/o sulla crosta dei formaggi e/o nel latte impiegato per la loro produzione.

Gli esami effettuati dagli IZS per la ricerca di *L. m.* negli alimenti nel periodo gennaio 2001 – giugno 2002, impiegando i metodi analitici dettati da O. M. 7/12/93; AFNOR V08/055,1997; ISO 10560, 1993; ISO 11290,1997, hanno permesso di rilevare in 22.218 prodotti lattiero-caseari non meglio specificati una percentuale di positività dello 0,9%. Nello stesso periodo risultò positivo per *L. m.* il 2,3% dei 44.564 campioni di tutte le tipologie di alimenti esaminati complessivamente; la maggior frequenza di isolamento fu osservata per i prodotti carnei e per i prodotti ittici, mentre la contaminazione risultò assente in uova ed ovoprodotti e fu giudicata scarsa (0,9%) nei prodotti lattiero-caseari.

I risultati dei controlli ufficiali effettuati nella Regione Piemonte, con riferimento specifico alle analisi effettuate presso l'IZS Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta negli anni 2004, 2005, 2006 e 2007, permettono di evidenziare quanto segue relativamente a formaggi/latticini:

Anno 2004: su n. 595 esami n. 20 (3,36%) sono risultati positivi e, più precisamente, n. 6 su 95 formaggi a lunga stagionatura > 60gg; n. 1 su 24 formaggi a pasta filata; n. 1 su 5 formaggi a pasta molle; n. 5 su 125 formaggi a pasta molle prodotti con latte pastorizzato; n. 4 su 63 formaggi con stagionatura < 60gg; n. 2 su 167 formaggi prodotti con latte crudo e/o termizzato e n. 1 su 12 formaggi fusi.

Anno 2005: su n. 601 esami n. 35 (5,82%) sono risultati positivi e, più precisamente, n. 14 su 118 formaggi a lunga stagionatura > 60gg; n. 4 su 24 formaggi a pasta molle; n. 3 su 87 formaggi a pasta molle prodotti con latte pastorizzato; n. 3 su 54 formaggi con stagionatura < 60gg; n. 9 su 172 formaggi prodotti con latte crudo e/o termizzato; n. 1 su 24 ricotte e n. 1 su 53 prodotti non meglio definiti.

Anno 2006: su n. 576 esami n. 22 (3,81%) sono risultati positivi e, più precisamente, n.

1 su 42 formaggi a lunga stagionatura > 60gg; n. 1 su 8 formaggi a pasta dura; n. 4 su 48 formaggi a pasta molle; n. 8 su 55 pool di croste di formaggi a pasta molle; n. 5 su 166 formaggi prodotti con latte crudo; n. 1 su 22 formaggi a pasta molle non stagionato prodotto con latte pastorizzato; n. 1 su 19 ricotte e n. 1 su 33 prodotti non meglio definiti.

Anno 2007: su n. 489 esami n. 17 (3,47%) sono risultati positivi e, più precisamente, n. 1 su 55 formaggi a pasta molle; n. 7 su 51 pool di croste di formaggi a pasta molle; n. 3 su 145 formaggi prodotti con latte crudo; n. 2 su 56 formaggi stagionati prodotti con latte pastorizzato; n. 1 su 18 ricotte e n. 3 su 76 prodotti non meglio definiti.

N. 70 ceppi di *L. m.* isolati dallo stesso IZS (n. 47 da formaggi e latticini e n. 23 da tamponi ambientali) e n. 5 ceppi isolati da casi clinici umani presso ospedali della regione sono stati sottoposti a PFGE ed a sierotipizzazione nel corso di un Progetto Pilota realizzato presso il Settore di Ispezione degli Alimenti della Facoltà di Medicina Veterinaria di Torino.

La tabella seguente riporta i dati relativi alla sierotipizzazione:

| sierotipo | % | matrice | n. campioni |
|-----------|-----|---------------|-------------|
| 1/2a | 59% | formaggi | 30 |
| | | tamponi | 13 |
| | | isolato umano | 1 |
| 4b/4e | 23% | formaggi | 8 |
| | | tamponi | 7 |
| | | isolati umani | 2 |
| 1/2b | 8% | formaggi | 4 |
| | | tamponi | 1 |
| | | isolati umani | 1 |
| 3a | 5% | formaggi | 2 |
| | | tamponi | 2 |

I risultati hanno permesso di suddividere i 75 ceppi in 40 PGFE types e di raggrupparli in 11 cluster, scegliendo come valore minimo di similarità l'80%. Il cluster 10 è risultato il più rappresentato, con 26 ceppi, tutti provenienti da campioni di gorgonzola e tamponi ambientali riconducibili agli ambienti di produzione di questo formaggio. I ceppi di questo cluster appartenevano ai sierotipi 1/2a (n.24) e 3a (n.2). Il cluster 8 comprendeva n. 10 ceppi appartenenti al sierotipo 4b/4e ed a formaggi e tamponi ambientali provenienti prevalentemente dell'ASL di Ivrea. Il cluster 6 (n. 6 ceppi) comprendeva isolati provenienti esclusivamente da formaggi e tamponi ambientali, tutti appartenenti al sierotipo 1/2a. La clusterizzazione ha permesso di verificare una similarità tra i ceppi circolanti negli ambienti di produzione dei prodotti lattiero-caseari ed ha mostrato che il sierotipo più frequente in questo ambito è il sierotipo 1/2a. Per quanto riguarda il confronto dei ceppi umani con quelli isolati da matrici alimentari, un solo ceppo clinico (cluster 1) ha permesso di riscontrare una similarità maggiore dell'80%.

I risultati dei controlli ufficiali effettuati presso l'IZS del Mezzogiorno negli anni 2004 (solo Campania), 2005 (solo Campania) e 2006, 2007 e 2008 (Campania e Calabria) permettono di evidenziare quanto segue relativamente a formaggi/latticini:

Anno 2004: su n. 210 esami riguardanti formaggi di bufala a pasta filata, formaggi di vacca a pasta filata, formaggi a pasta filata mista, formaggi a pasta dura di vacca, formaggi a pasta filata stagionata, formaggi di pecora, formaggi a pasta molle, formaggi fusi, derivati del latte, ricotta sono risultati positivi n. 4 formaggi di vacca a pasta filata (1,9 %).

Anno 2005: su n. 196 esami riguardanti formaggi di bufala a pasta filata, formaggi di vacca a pasta filata, formaggi e latticini misti, formaggi di vacca molli e teneri, derivati del latte, ricotta, n. 1 formaggio di vacca a pasta filata è risultato positivo (0,5 %).

Anno 2006: su n. 315 esami riguardanti formaggi di bufala a pasta filata, formaggi di vacca a pasta filata, formaggi e latticini misti, formaggi di vacca molli e teneri, formaggi di pecora, formaggi di vacca a pasta dura, formaggi fusi, derivati del latte, ricotta, n. 1 formaggio di vacca a pasta filata è risultato positivo (0,3 %).

Anno 2007: su n. 1249 esami (n. 1039 Campania e n. 210 Calabria) riguardanti formaggi di bufala a pasta filata, formaggi di vacca a pasta filata, formaggi e latticini misti, formaggi di vacca molli e teneri, formaggi di pecora, formaggi di capra, formaggi di vacca a pasta dura, formaggi semistagionati, formaggi freschi, formaggi fusi, derivati del latte, ricotta, sono risultati positivi n. 1 campione di formaggio di bufala a pasta filata prelevato in Campania e n. 2 campioni di formaggio di vacca molle e tenero e n. 1 campione di formaggio di vacca a pasta filata prelevati in Calabria (0,3 %).

Anno 2008: su n. 2380 esami (n. 1874 Campania e n. 506 Calabria) riguardanti formaggi di bufala a pasta filata, formaggi di vacca a pasta filata, formaggi e latticini misti, formaggi di vacca molli e teneri, formaggi di pecora, formaggi di pecora stagionati, formaggi di capra, formaggi di vacca a pasta dura, formaggi semistagionati, formaggi freschi, formaggi fusi, derivati del latte, formaggi a pasta filata stagionata, ricotta di bufala, bovina, ovina e mista, sono risultati positivi n. 34 campioni prelevati in Campania e n. 11 in Calabria. Più precisamente in Campania *L. m.* è risultata presente in n. 28 campioni di formaggio di vacca a pasta filata all'analisi qualitativa mentre all'esame quantitativo in n. 5 formaggi di vacca a pasta filata e in n. 1 formaggio a pasta dura sono state individuate concentrazioni <100 cfu/g (cfu: *Colony Forming Unit*). In Calabria *L. m.* è risultata presente in n. 2 campioni di formaggio di vacca a pasta filata all'analisi qualitativa. All'esame quantitativo, in n. 3 formaggi di vacca a pasta filata, n. 3 formaggi di pecora e n. 1 campione di ricotta bovina sono state individuate concentrazioni <100 cfu/g e in n. 1 campione di formaggio di vacca a pasta filata e n. 1 di ricotta bovina concentrazioni < 10 cfu/g (1,8 %).

Fra i risultati dei controlli effettuati dalla Regione Toscana per *L. m.* negli anni 2006 e 2007 (risultati che vengono ritenuti abbastanza rappresentativi della realtà regionale in quanto la Regione Toscana ha avviato dal 2005, avvalendosi della collaborazione dell'Osservatorio Epidemiologico Veterinario Regionale attivo presso la Sezione di Siena dell'IZS Lazio e Toscana, un percorso di programmazione dei campioni prelevati dai Servizi Veterinari delle ASL al fine di effettuare un piano di campionamento che tenesse conto della prevalenza dei problemi) è stata notificata una sola positività relativa ad un tampone ambientale di uno stabilimento di prodotti a base di latte. Nessuna positività è stata riportata per i formaggi.

Dal marzo 2005 all'ottobre 2006 presso l'IZS dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale" è stato condotto uno studio per valutare la presenza di *L. m.* in 6 formaggi tra i più esposti a contaminazione e tra i più commercializzati in Italia. Sono stati controllati 2.132 campioni di formaggi (449 di asiago, 300 di brie, 178 di camembert, 437 di crescenza, 444 di gorgonzola e 324 di taleggio) e, quale fase della filiera nella quale effettuare il campionamento, è stata scelta la commercializzazione, per valutare l'esposizione del consumatore per responsabilità del produttore o del venditore. La rappresentatività del campione è stata garantita dalle percentuali degli acquisti nella grande e piccola distribuzione. Le prove microbiologiche sono state eseguite includendo nel quantitativo da esaminare, per taleggio, brie, camembert e gorgonzola, anche la relativa crosta, al fine di simulare gli effetti di una sua asportazione incompleta effettuata a livello domestico, anche dietro indicazioni del Consorzio di Tutela del Taleggio che considera la crosta commestibile previa raschiatura. La presenza di *L. m.* è stata riscontrata in tutte le tipologie, con esclusione del camembert, con prevalenze di 0,2% (asiago e crescenza), 1% (brie), 4,7% (gorgonzola) e 6,2% (taleggio). Sono risultati complessivamente positivi 46 campioni (2,15%). Dei 42 campioni per i quali è stata eseguita l'analisi quantitativa, n. 39 hanno presentato concentrazioni fino a 24 MPN/g e solo n. 3 (0,14%) campioni valori compresi fra 110 e 460 MPN/g.

Nel corso dell'INDAGINE SULLA PRESENZA DI *Listeria spp* e *Listeria*

monocytogenes NEGLI AMBIENTI DI PRODUZIONE E STAGIONATURA DI TALEGGIO D.O.P. effettuata dall'IZS della Lombardia ed Emilia Romagna sono state visitate tutte le strutture associate al Consorzio di Tutela del Taleggio D.O.P., suddivise in caseifici e stagionatori secondo quanto comunicato dal Consorzio stesso. Il campionamento è stato eseguito mediamente in 20 punti per ogni caseificio ed in circa 10 punti per ogni stagionatore, su una superficie di circa 100 cm². Sono state campionate, in relazione alle diverse aree individuate (di confezionamento, di transito, di porzionatura, di ricevimento, di spedizione, di trasformazione, spogliatoio, ivi compresi i servizi igienici, le aree di sosta, i punti di ristoro, ecc.) varie superfici (carrelli, pareti, pavimenti, porte, pozzetti, tavoli, maniglie, taglierine, ripiani stufatura, ripiani stagionatura, pedane, rulli, nastri, stampi, puliti e sporchi, pulsantiere, calzari, ecc.). Inoltre, indipendentemente dall'entità di produzione, è stato effettuato il campionamento di forme di Taleggio D.O.P. prossime al termine della stagionatura e comunque entro dieci giorni dal momento previsto della commercializzazione. In particolare da ciascuna forma sono state effettuate le seguenti tipologie di prelievi e analisi: 25 g di crosta, 25 g di pasta, previa asportazione della crosta in condizioni asettiche, 25 g di pasta più crosta, analizzati dopo omogeneizzazione. Nelle varie aree di lavorazione, all'esame colturale, le percentuali di positività per *L. m.* hanno oscillato dal 2,2% (aree di transito) al 7,0% e 7,7% rispettivamente, nelle aree di confezionamento e spedizione. Per quanto riguarda i dati ottenuti con l'esame colturale tradizionale, l'83% dei 65 stabilimenti controllati ha presentato *Listeria spp.* ed il 36% ha dato esito positivo per la presenza di *L. m.* Undici stabilimenti su 65 (16,9%) non hanno evidenziato *Listeria spp.* all'esame colturale, pur risultando positivi all'esame effettuato mediante PCR. Il prelievo di formaggio ha avuto lo scopo di verificare quale fosse la diffusione di *Listeria spp.* e di *L. m.* sul/nel prodotto al termine della stagionatura, subito prima dell'immissione in commercio. Sono stati esaminati n. 53 campioni di croste, n. 53 campioni di alimento (per "alimento" si intende l'omogeneizzato ottenuto da un campione rappresentativo tanto della crosta quanto della pasta) e n. 53 campioni di pasta. Sono risultati positivi, all'esame colturale, n. 5 campioni (3,14%), e precisamente n. 3 croste e n. 2 campioni di alimento. Nessun isolamento è stato effettuato dalla pasta. Più elevata, anche in questo caso la positività alla ricerca mediante PCR.

In una analoga INDAGINE SULLA PRESENZA DI *Listeria monocytogenes* NEL FORMAGGIO GORGONZOLA svolta, in collaborazione, dal Consorzio del Gorgonzola D.O.P., e dagli IZS Lombardia ed Emilia Romagna e Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta e conclusasi nel marzo 2005, gli autori si sono posti l'obiettivo di valutare la prevalenza di *Listeria spp.* negli ambienti di produzione del Gorgonzola D.O.P. mediante analisi eseguite su campioni raccolti presso caseifici e stagionatori. Anche in questo caso l'esecuzione dei tamponi ambientali ha previsto il monitoraggio di tutte le superfici di lavorazione, incluse le aree di sosta del personale, i servizi igienici e gli spogliatoi e il campionamento è stato eseguito in almeno 20 punti di ogni caseificio e su una superficie di circa 100 cm² per ciascun punto. Indipendentemente dall'entità di produzione, sono state campionate almeno cinque differenti forme di Gorgonzola per ciascun lotto di produzione e il campionamento è stato eseguito da 3 lotti a dieci giorni dal momento previsto della commercializzazione. Il prelievo dalle forme è stato eseguito mediante raschiatura della crosta asportando in modo superficiale una quantità di circa 20-25 grammi di materiale, utilizzando un apposito strumento sterile. Nell'analisi dei risultati, ed in particolare di quelli relativi ai tamponi ambientali, gli autori non hanno volutamente fatto distinzione tra presenza di *Listeria spp.* e *Listeria monocytogenes*, in considerazione del fatto che non esistono peculiari differenze di adattamento tra specie patogena e non nell'ambiente, per cui *Listeria spp.* deve essere considerata come importante indicatore della situazione igienico sanitaria dei locali e delle attrezzature di lavorazione. La presenza di *L. m.* è stata comunque riscontrata complessivamente nel 9,2% delle 447 croste prelevate in 34 stabilimenti (tra caseifici con annesso celle di stagionatura e/o esclusivamente presso stagionatori), in 19 dei quali non è

stato rilevato alcun campione di croste positivo. Per quanto riguarda i tamponi ambientali gli autori sottolineano che *L. m.* non è stata riscontrata nei locali di stagionatura in ben 14 dei 17 stabilimenti in cui non era risultata presente in produzione e ritengono pertanto che la contaminazione delle croste del gorgonzola derivi da una contaminazione crociata tra la zona di produzione e quella di stagionatura.

Manfreda et al. (2005) hanno analizzato, dall'ottobre 2003 all'aprile 2004, n. 1656 campioni di gorgonzola, prelevati dopo il confezionamento (n. 1489) ed il giorno della scadenza, o quello immediatamente successivo (n. 167), fissata entro i 30-60 gg dal confezionamento, ed effettuando il prelievo nella pasta e sotto la crosta. Le percentuali di positività sono state del 2,1% all'atto del confezionamento e del 4,8% alla fine della *shelf life*, percentuali più basse rispetto a quelle, oscillanti dal 3,4% al 14%, rilevate in formaggi erborinati nel corso di altre ricerche svolte nel nostro Paese. La ribotipizzazione di 30 ceppi ha mostrato inoltre che gli isolati di *L. m.* associati al gorgonzola evidenziano un basso livello di diversità genetica e potrebbero essere altamente patogeni per l'uomo.

Nel corso della ricerca riguardante la VALUTAZIONE DELLA SICUREZZA DI PRODUZIONI CASEARIE D'ALPEGGIO (Grassi et al., 2003) sono stati esaminati 190 campioni di formaggio, 19 di ricotta e 36 di burro fabbricati da 76 produttori d'alpeggio della Regione Piemonte. *Listeria spp.* è stata isolata da 18 campioni di formaggi ma solo 3 campioni (1,57%) sono risultati positivi per *L. m.* Dai tre formaggi positivi sono stati isolati 5 ceppi: 1 dalla pasta e 4 dalla crosta.

Nel corso della ricerca riguardante le CARATTERISTICHE MICROBIOLOGICHE DEI FORMAGGI DI MALGA (Alberghini et al., 2007) prodotti in 23 malghe ubicate sulle Dolomiti in Provincia di Belluno, tutte a quota superiore i 1500 metri, sono stati prelevati campioni in tutte le fasi di lavorazione dei formaggi, dalla materia prima (latte crudo) al prodotto finito e sono stati eseguiti tamponi ambientali nei locali di produzione e stagionatura. Soltanto un campione di latte crudo è risultato contaminato da *L. m.*

Vallone et al. (2006) hanno studiato l'ATTIVITÀ INIBENTE DI CEPPI FUNGINI DEL GENERE PENICILLIUM NEI CONFRONTI DI *Listeria monocytogenes* in 68 campioni di formaggi a crosta fiorita di provenienza diversa. *Listeria spp.* è stata riscontrata nel 33,8% dei campioni ma solo nell'11,76% (8 campioni) era presente *L. m.*

Lo studio sulla PREVALENZA DI LISTERIA SPP. IN CASEIFICI BOVINI DELLA PUGLIA E DELLA BASILICATA (Latorre et al., 2006) ha interessato 12 caseifici di piccole e medie dimensioni, nei quali sono state controllate matrici alimentari e superfici. Sono risultati contaminati da *L. m.* 3 caseifici e 2 su 97 (2,1%) matrici alimentari (tuma e formaggio a pasta filata). Nessun campione di latte è risultato contaminato.

Nel corso della ricerca riguardante la VALUTAZIONE DELLA SICUREZZA DEL PROCESSO TECNOLOGICO DI PASTE FILATE STAGIONATE PRODOTTE IN SARDEGNA (Mazzette et al., 2004)) *L. m.* non è mai stata riscontrata.

In una successiva INDAGINE SULLA PREVALENZA DI *L. MONOCYTOGENES* E SUI SITI DI CONTAMINAZIONE IN CASEIFICI OVINI (De Santis et al., 2005) sono stati esaminati 19 caseifici dai quali sono stati prelevati 408 campioni, e precisamente 129 matrici alimentari, 170 superfici a contatto con l'alimento e 109 superfici non a contatto con l'alimento. *L. m.* è stata isolata da 1 campione di latte (5,3%), 2 di formaggi a pasta dura (12,5%), 1 ricotta stagionata/superficie (3,7%) e 1 ricotta stagionata/pasta (3,7%). Il microrganismo non è mai stato rinvenuto sulle superfici a contatto con l'alimento mentre è risultato positivo l'8% delle superfici non a contatto con l'alimento (pareti e pavimenti).

Finazzi et al. (2008) hanno studiato la dinamica di sopravvivenza di *L. m.* nel formaggio grana DOP grattugiato, stoccato a + 4°, 10°, 15° e 20°C dopo aver inoculato 3 diversi ceppi del microrganismo, in modo da ottenere una concentrazione finale di 10⁵-10⁶ cfu/g. E' stato rilevato che la popolazione a 4°C tende a diminuire lentamente, a 10°C diminuisce leggermente nelle prime tre settimane, per poi mantenersi a livelli costanti fino alla

fine del secondo mese, mentre a 15°C e a 20°C, dopo una fase di latenza rispettivamente di 15 e 9 giorni, aumenta fino ad arrivare ad un valore di circa 2 log superiore a quello iniziale. I risultati sono stati più favorevoli rispetto a quelli stimati in base a modelli di microbiologia predittiva e confermano la necessità di verificare e trasferire i modelli in condizioni pratiche.

Valutazione degli effetti dell'esposizione correlata al consumo di formaggi

Allorché una persona altrimenti sana contrae la listeriosi si teorizza che il soggetto sia stato esposto ad una carica batterica molto elevata di *L. m.* oppure che il ceppo sia insolitamente virulento. In entrambi i casi è ovvio che si debba tentare di ridurre al minimo il rischio di contagio.

La valutazione ed il successivo controllo del rischio per la salute comportano pertanto (a) l'*identificazione* della probabilità di trasmissione di *L. m.* con l'ingestione di un dato prodotto alimentare, nel caso specifico dei formaggi; (b) la *valutazione* di tutti i casi o modi di contaminazione e proliferazione che possono verificarsi lungo la catena alimentare dell'alimento che verrà ingerito. I dati richiedono poi di essere elaborati in maggior dettaglio, tenendo conto della virulenza di *L. m.* e di altri parametri, quali (a) la vulnerabilità del consumatore; (b) la frequenza del consumo e la quantità ingerita; e (c) il destino dell'agente patogeno nel cibo nelle reali condizioni di distribuzione, stoccaggio, vendita e manipolazione culinaria a livello domestico e di ristorazione collettiva.

La valutazione del rischio microbiologico è largamente basata sull'esposizione dell'alimento al microrganismo, il che richiede la disponibilità di dati riguardanti la natura dell'alimento, la sua catena di distribuzione, le abitudini alimentari, il comportamento del microrganismo nell'alimento.

I dati presentati, e quelli desumibili dalla vasta bibliografia internazionale, dimostrano una contaminazione generalmente assente o modesta in corso di lavorazione, che può aumentare, ma in maniera generalmente non elevata, in relazione alla tipologia di prodotto e al rispetto delle norme igieniche, in corso di lavorazione e poi maturazione/stoccaggio. Più consistenti possono essere invece le possibilità di moltiplicazione in corso di distribuzione, in relazione alle temperature di stoccaggio, sovente non sufficientemente basse, alla durata della shelf-life definita dal produttore ed anche alla durata della conservazione a livello domestico, che, per quanto generalmente breve, non sempre è realizzata alle condizioni indicate dal produttore e/o al riparo da contaminazioni crociate.

Le campagne di informazione dei consumatori, in modo particolare delle persone anziane e delle fasce a rischio, restano quindi importanti misure di gestione del rischio, considerato che un'ampia percentuale di casi di listeriosi è da ricondurre ad errori verificatisi a livello domestico.

Caratterizzazione del rischio

Le ricerche condotte a livello nazionale ed i dati riportati hanno permesso di evidenziare che:

- i risultati relativi alla ricerca qualitativa di *L. m.* ottenuti a seguito sia dei controlli ufficiali sia delle ricerche effettuate, e includendo fra le positività rinvenute anche quelle relative ai campionamenti riguardanti pasta e crosta e pool di croste, denotano percentuali di contaminazione dei formaggi mediamente non molto elevate. Esse oscillano fra lo zero e il 6,2%, in relazione alla tipologia di prodotto ed anche alla numerosità dei campioni esaminati. Più elevate sono le percentuali di positività individuate nel caso del solo raschiato di croste di gorgonzola (9,2%), di formaggi a pasta dura di latte ovino e di formaggi a crosta fiorita di provenienza diversa non meglio specificati. I valori rinvenuti non sono particolarmente discosti da quelli riportati a livello comunitario. Nel Report comunitario relativo al 2006 [The EFSA

Journal (2007) - 130] si riferisce che la presenza di *L. m.* è stata rinvenuta nella metà delle indagini qualitative riguardanti formaggi prodotti con latte bovino e che la percentuale dei campioni positivi era generalmente bassa, oscillando fra 0,1% e 7,1% . Un minor numero di riscontri positivi, in riferimento sia al numero di indagini sia al numero dei positivi, è stato invece evidenziato in formaggi prodotti con latte ovino, caprino, latte misto o latte non meglio specificato. Per il nostro Paese viene evidenziata inoltre l'elevata percentuale di positività in campioni di formaggi a lunga stagionatura (hard cheeses) prodotti con latte crudo o termizzato. Il Report comunitario relativo al 2007 [The EFSA Journal (2009) - 223] conferma la stessa tendenza generale per quanto riguarda le indagini di tipo qualitativo sui formaggi di latte bovino e la percentuale, ritenuta bassa, di campioni positivi (fra 0,1% e 3,2%). Percentuali ugualmente basse, oscillanti generalmente dallo 0,4% al 4,4%, sono state rinvenute in formaggi prodotti con latte ovino e caprino;

- una recente valutazione del rischio ha concluso che la maggior parte dei casi di listeriosi è stata causata dal consumo di alimenti con livelli del microrganismo marcatamente superiori a 100 cfu/g. Un documento del Codex sui criteri microbiologici suggerisce di applicare una tolleranza zero per tutto il periodo di conservabilità degli alimenti RTE nei quali *L. m.* può moltiplicarsi. Applicando questo criterio, sarebbero giudicati non idonei al consumo alimenti che in realtà possono rappresentare un basso rischio per il consumatore ma è altrettanto vero che, poiché per questi prodotti è impossibile avere l'assoluta certezza che non supereranno 100 cfu/g durante il periodo di conservabilità, applicando gli attuali limiti è da ipotizzare la probabilità che possano venir consumati alimenti con livelli anche significativamente superiori a quelli fissati e questo comporta la necessità di valutare l'impatto di questa misura sulla salute pubblica;
- mancano quasi del tutto, per il nostro Paese, dati relativi alla ricerca quantitativa di *L. m.*, indispensabili per un'analisi del rischio. I dati disponibili numericamente più consistenti riportano che solo nello 0,14% di 2132 campioni esaminati (449 di asiago, 300 di brie, 178 di camembert, 437 di crescenza, 444 di gorgonzola e 324 di taleggio) sono stati riscontrati valori superiori ai limiti fissati, in quanto in 3 formaggi sono stati individuati valori compresi fra 110 e 460 MPN (Most Probable Number)/g. La situazione nazionale non si differenzia sostanzialmente da quella comunitaria. Il Report relativo al 2006 sottolinea infatti il minor numero di indagini quantitative comunicato dai Paesi Membri e segnala che sono stati individuati campioni con livelli di *L. m.* superiori a 100 cfu/g in sole 5 delle 35 indagini quantitative e che le percentuali di non conformità erano molto basse (<1%). Il Report comunitario relativo al 2007 riferisce che la presenza di *L. m.* è individuata raramente nei formaggi negli Stati Membri e che solo raramente sono raggiunti livelli superiori a 100 cfu/g. In particolare è stato osservato il superamento del suddetto limite rispettivamente nell'1% dei formaggi prodotti con latte ovino crudo o termizzato prelevati al dettaglio e nell'1,6% di formaggi di latte di capra crudo o termizzato esaminati nel corso di indagini effettuate in Portogallo ed in Italia. La Germania ha tuttavia rinvenuto *L. m.* nel 36,8% di formaggi a pasta dura prodotti con latte ovino pastorizzato e il 19,3% dei campioni presentava livelli superiori a 100 cfu/g. Il Report relativo al 2007 evidenzia che *L. m.* è stata isolata più frequentemente da formaggi a pasta molle o semimolle prodotti con latte pastorizzato ma che comunque è stata rinvenuta sia in formaggi a pasta molle, semimolle e dura sia in prodotti ottenuti con latte crudo, termizzato e pastorizzato. E' inoltre posto in rilievo il fatto che i formaggi a pasta dura possono consentire la crescita di *L. m.*, probabilmente all'inizio della fase di maturazione, e che pertanto la categorizzazione di un alimento fra quelli che consentono o non consentono la crescita di un alimento deve essere effettuata caso per caso.

- i livelli di contaminazione, ambientali e dei formaggi, sono inizialmente modesti e spesso non svelabili con le metodiche tradizionali ma evidenziabili solo mediante PCR. Questi bassi livelli comportano comunque la possibilità di moltiplicazione di *L. m.* e giustificano le positività riscontrate in ambito nazionale e internazionale, considerata la capacità del microrganismo di replicare abbastanza rapidamente a temperature di refrigerazione;
- le procedure di pulizia e disinfezione sono apparse inadeguate: le positività riscontrate dimostrano una persistenza del patogeno sulle superfici, a contatto e non, con i formaggi. Risulta quindi importante continuare a verificare periodicamente l'efficacia delle prassi di pulizia e disinfezione ed il livello di formazione ed il comportamento igienico del personale;
- è necessario eseguire, secondo quanto previsto anche dalla normativa attuale (Reg. 2073/2005 CE), prove di determinazione della shelf-life basate sullo studio del comportamento di *L. m.* nelle condizioni "ragionevolmente prevedibili di distribuzione, conservazione e uso" e l'opportunità, secondo quanto condiviso anche da ricercatori precedentemente citati, di effettuare verifica del grado di contaminazione da *L. m.* sui resi, oltre che comunque al termine del periodo di shelf-life.

Di recente l'Autorità europea per la sicurezza alimentare (EFSA) e il Centro europeo per la prevenzione e il controllo delle malattie (CEPCM) hanno pubblicato la Relazione comunitaria sulle zoonosi per il 2007. Da essa si evince che nel 2007 le infezioni da *Campylobacter* hanno continuato a costituire la zoonosi più frequentemente segnalata nell'uomo in tutta l'Unione europea, con un aumento del 14,2% rispetto all'anno precedente. Per quanto riguarda la *Salmonella*, sebbene il numero di casi sia stato in calo per il quarto anno consecutivo, nel 2007 le persone colpite dal batterio sono state 151.995 rispetto alle 164.011 del 2006. Il numero di infezioni umane da *Listeria* è rimasto allo stesso livello del 2006, con 1.554 casi confermati, ma la listeriosi è stata l'infezione con il più alto tasso di mortalità, soprattutto nei gruppi vulnerabili. Il direttore responsabile per la cooperazione scientifica dell'EFSA, Hubert Deluyker, ha dichiarato che *Campylobacter* e *Listeria* negli alimenti costituiscono ancora motivo di preoccupazione e che il problema va affrontato. Il responsabile per il monitoraggio del CEPCM, Andrea Ammon, ha affermato che, sebbene la lotta contro le infezioni da *Salmonella* e *Campylobacter* continui a costituire una delle massime priorità, particolare preoccupazione suscita l'elevato tasso di mortalità tra gli anziani colpiti da listeriosi ed ha aggiunto che il CEPCM lavora a stretto contatto con l'EFSA in uno sforzo congiunto per approfondire la conoscenza della trasmissione della listeriosi e per scoprire quali misure preventive possono essere adottate per ridurre i casi di infezione e di morte. Anche se meno frequenti rispetto ai casi di infezione da *Campylobacter* e da *Salmonella*, i casi di infezione umana da *Listeria* presentano infatti un alto tasso di mortalità (20%), in particolare negli anziani e nei gruppi più vulnerabili. L'importanza di una zoonosi non dipende soltanto dalla sua incidenza nella popolazione ma anche dalla sua gravità: alcune zoonosi possono infatti causare gravi malattie o avere un tasso di mortalità elevato, nonostante un numero di casi relativamente basso.

Conclusioni

In conclusione il CNSA:

1. ritiene che la documentazione relativa alla situazione nazionale sia insufficiente per esprimere un parere definitivo in ordine alla valutazione del rischio determinato da *Listeria monocytogenes* nei formaggi, anche perché nella maggioranza dei casi i dati non sono recenti e sono inoltre essenzialmente qualitativi, riportano cioè presenza/assenza di *L.*

- m.*, mentre per la valutazione del rischio, alla luce della normativa vigente, è importante conoscere anche la concentrazione del microrganismo stesso;
2. rimarca quanto sia importante ricordare agli OSA che variazioni anche modeste dei processi di lavorazione (concentrazione di sale o tempi di stagionatura) non sempre sono di scarso significato, in quanto possono essere importanti per favorire/ostacolare la moltiplicazione di *L. m.* E' necessario pertanto valutare se sia necessario apportare modifiche al piano di autocontrollo ogniqualevolta il processo venga modificato;
 3. sottolinea
 - a) che i valori massimi tollerati per questo microorganismo negli alimenti sono riportati nell'allegato I del Reg. 2073/2005 quali criteri di sicurezza alimentare e, come tali, devono essere rispettati per tutto il periodo di conservabilità dell'alimento, sia esso espresso come "da consumarsi entro" o come "da consumarsi preferibilmente entro";
 - b) che gli OSA devono adottare "provvedimenti, in ogni fase della produzione, della lavorazione e della distribuzione, inclusa la vendita al dettaglio, ... per garantire che... i criteri di sicurezza alimentare applicabili per l'intera durata del periodo di conservabilità dei prodotti possano essere rispettati a condizioni ragionevolmente prevedibili di distribuzione, conservazione e uso... Se necessario... effettuano studi, in conformità all'allegato II, per verificare se i criteri sono rispettati per l'intera durata del periodo di conservabilità. In particolare ciò si applica agli alimenti pronti che costituiscono terreno favorevole alla crescita di *L. m.* e che possono costituire un rischio per la salute pubblica in quanto mezzo di diffusione di tale batterio". A questo proposito il CNSA rimanda al Commission Staff Working Document – Guidance Document on *Listeria monocytogenes* shelf-life studies for ready-to-eat foods, under Regulation (EC) No 2073/2005 of 15 November 2005 on microbiological criteria for foodstuffs (SANCO/1628/2008);
 4. auspica una più completa indagine sugli episodi e sui casi sporadici di listeriosi, come ha peraltro raccomandato anche il BIOHAZ Panel dell'EFSA nella sua recente opinione. La caratterizzazione dei ceppi potenziali responsabili di casi e di episodi di listeriosi umana, che di norma non viene effettuata dai laboratori, ha infatti consentito di effettuare importanti considerazioni;
 5. auspica di poter ottenere ulteriori dati e suggerisce di effettuare un monitoraggio, da attuarsi in fase di distribuzione - meglio verso la fine della shelf-life, qualora specificata - sulle tipologie di formaggi di più largo consumo, precisando modalità di campionamento e di analisi, in modo da avere dati quantitativi recenti e raffrontabili, focalizzando l'attenzione, anche se non in maniera esclusiva, sui formaggi che consentono la moltiplicazione del microrganismo, senza trascurare le "filieri corte" che sono attualmente oggetto di crescente attenzione. Ritiene altresì che il problema andrebbe affrontato a livello comunitario, in modo tale da poter ottenere dati raffrontabili all'interno dei Paesi membri.

Le indagini svolte nei vari Paesi Membri mostrano che, anche nel 2007, al pari degli anni precedenti, i campioni di alimenti RTE (ready to eat) superano raramente il limite di 100 cfu/g. Detto superamento è stato osservato in primo luogo nei prodotti ittici e soprattutto nel pesce affumicato e poi nei prodotti carnei e nei formaggi. Queste tipologie di alimenti sono risultate le più contaminate anche nel 2006 e quindi devono continuare ad essere oggetto di maggiore attenzione nel contesto dei controlli ufficiali e dell'autocontrollo.

Dati analitici, ed in particolare dati quantitativi, adeguatamente divulgati, continuano pertanto ad essere necessari in quanto si ritiene che solo in questo modo possa eventualmente essere presa in considerazione l'opportunità di adottare misure di gestione del rischio, in aggiunta a quelle già prese dalla DGSAN, quali ad es. la riduzione della durata della shelf-life o il suggerimento di non consumare la crosta di taluni formaggi, in particolare per determinate

fasce di consumatori. Si ribadisce l'opportunità, come sopra detto, di segnalare/affrontare il problema a livello comunitario, qualora questo aspetto non sia già oggetto di considerazione, in modo tale da poter ottenere dati fra loro confrontabili in quanto viene molto spesso ribadito che l'interpretazione dei dati è ostacolata da numerose variabili, quali quelle relative al campionamento, al prodotto, alle modalità di prelievo e di analisi.

Bibliografia

- Alberghini, L., Miotti Scapin, R., Giaccone, V., 2007. Caratteristiche microbiologiche dei formaggi di malga. Atti XVII Convegno Nazionale A.I.V.I., 85-89.
- Augustin, J. C., Zuliani, V., Cornu, M., Guillier, L., 2005. Growth rate and growth probability of *Listeria monocytogenes* in dairy, meat and seafood products in suboptimal conditions. *Journal of Applied Microbiology* **99**, 1019-1042.
- Brosch, R., Brett, M., Catimel, B., Luchansky, J. B., Ojeniyi, B., Rocourt, J., 1996. Genomic fingerprinting of 80 strains from the WHO multicenter international typing study of *Listeria monocytogenes* via pulsed-field gel electrophoresis (PFGE). *International Journal of Food Microbiology* **32**, 343-355.
- Brosch, R., Chen, J., Luchansky, J.B., 1994. Pulsed-Field Fingerprinting of *Listeriae*: Identification of Genomic Divisions for *Listeria monocytogenes* and Their Correlation with Serovar. *Applied and Environmental Microbiology*, July 2584-2592.
- Cataldo, G., Conte, M.P., Chiarini, F., Seganti, L., Ammendolia, M.G., Superti, F., Longhi, C., 2007. Acid adaptation and survival of *Listeria monocytogenes* in Italian-style soft cheeses. *Journal of Applied Microbiology* **103**, 185-193.
- Chambel, L., Sol, M., Fernandes, I., Barbosa, M., Zilhao, I., Barata, B., Jordan, S., Perni, S., Shama, G., Adriano, A., Faleiro, L., Requena, T., Pelaez, C., Andrew, P.W., Tanreiro, R., 2007. Occurrence and persistence of *Listeria* spp. in the environment of ewe and cow's cheese dairies in Portugal unveiled by an integrated analysis of identification, typing and spatial-temporal mapping along production cycle. *International Journal of Food Microbiology* **116**, 52-63.
- Conter, M., Paludi, D., Zanardi, E., Ghidini, S., Vergara, A., Ianieri, A., 2009. Characterization of antimicrobial resistance of foodborne *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Food Microbiology* **128**, 497-500.
- Conter, M., Prada, E., Di Ciccio, P., Zanardi, E., D'Orto, V., Ghidini, S., Vergara, A., Ianieri, A., 2007. Caratterizzazione genotipica e sierologica di *Listeria monocytogenes* isolata da alimenti e ambienti di lavorazione. Atti XVII Convegno Nazionale A.I.V.I. , 313-317.
- De Bujser, M.L., Dufour, B., Maire, M., Lafarge, V., 2001. Implication of milk and milk products in food-borne diseases in France and in different industrialised countries. *International Journal of Food Microbiology* **67**, 1-17.
- De Santis, E.P.L., Mazzette, R., Tedde, T., Pilo, A.L., Scarano, C., Meloni, D., 2005. Indagine sulla Prevalenza di *L. monocytogenes* e sui siti di contaminazione in caseifici ovin. Atti XV Convegno Nazionale A.I.V.I. , 227-231.
- Decastelli, L., Adriano, D., Gallina, S., Pivetta, E., Brusa, F., 2003. Analisi microbiologiche sui prodotti lattiero-caseari. Atti XIII Convegno Nazionale A.I.V.I. , 257-261.
- Delgado da Silva, M.C., Destro, M.T., Hofer, E., Tibana, A., 2001. Characterization and evaluation of some virulence markers of *Listeria monocytogenes* strains isolated from Brazilian cheeses using molecular, biochemical and serotyping techniques. *International Journal of Food Microbiology* **63**, 275-280.
- Denny, J., McLauchlin, J., 2008. Human *Listeria monocytogenes* Infections in Europe- An opportunity for improved European Surveillance. *Eurosurveillance* 13, Issues 1-5.
- Finazzi, G., Boni, P., Daminelli, P., Bonometti, E., Cosciani Cunico, E., Stroppa, A., 2008.

- Valutazione della dinamica di sopravvivenza di *Listeria monocytogenes* nel formaggio Grana Padano DOP grattugiato. *Industrie Alimentari* , XLII, 506-511.
- Grassi, M.A., Cravero, M., Civera, T., 2003. Valutazione della Sicurezza di Produzioni Casearie d'Alpeggio. *Atti XIII Convegno Nazionale A.I.V.I.* , 263-267.
- Latorre, L., Fracalvieri, R., Nuzzolese, N., La Salandra, G., Parisi, A., Santagata, G., 2006. Prevalenza di *Listeria* spp. in Caseifici Bovini della Puglia e della Basilicata. *Atti XVI Convegno Nazionale A.I.V.I.*, 169-173.
- Lomonaco, S., Decastelli, L., Nucera, D., Gallina, S., Bianchi, D.M., Civera, T., 2009. *Listeria monocytogenes* in Gorgonzola: Subtypes, diversity and persistence over time. *International Journal of Food Microbiology* **128**, 516-520.
- Manfreda, G., De Cesare, A., Stella, S., Cozzi, M., Cantoni, C., 2005. Occurrence and ribotypes of *Listeria monocytogenes* in Gorgonzola cheeses. *International Journal of Food Microbiology* **102**, 287-293.
- Maslow, J.N., Mulligan, M.E., Arbeit, R.D., 1993. Molecular Epidemiology: Application of Contemporary Techniques to the Typing of Microorganisms. *Clinical Infectious Diseases* **17**, 153-64.
- Mazzette, R., Gaetani, V.M., Meloni, D., Mureddu, A., De Santis, E.P.L., Cosseddu, A.M., 2004. Valutazione della sicurezza del processo tecnologico di paste filate stagionate prodotte in Sardegna. *Atti XIV Convegno Nazionale A.I.V.I.*, 233-239.
- Pintado, C.M.B.S., Oliveira, A., Pampulha, M.E., Ferreira, M.A.S.S., 2005. Prevalence and characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from soft cheese. *Food Microbiology* **22**, 79-85.
- Silva, I.M.M., Almeida, R.C.C., Alves, M.A.O., Almeida, P.F., 2003. Occurrence of *Listeria* spp. in critical control points and the environment of Minas Frescal cheese processing. *International Journal of Food Microbiology* **81**, 241-248.
- Stecchini, M.L., Aquili, V., Sarais, I., 1995. Behavior of *Listeria monocytogenes* in Mozzarella cheese in presence of *Lactococcus lactis*. *International Journal of Food Microbiology* **25**, 301-310.
- Swaminathan, B., Gerner-Smidt, P., 2007. The epidemiology of human listeriosis. *Microbes and infection* **9**, 1236-1246.
- Vallone, L., Brasca, M., Lodi, R., Balzaretto, C., 2006. Attività inibente di ceppi fungini del genere *Penicillium* nei confronti di *Listeria monocytogenes*. *Atti XVI Convegno Nazionale A.I.V.I.* , 284-288.
- Waak, E., Tham, W., Danielsson-Tham, M.L., 2002. Prevalence and Fingerprinting of *Listeria monocytogenes* Strains Isolated from Raw Whole Milk in Farm Bulk Tanks and Dairy Plant Receiving Tanks. *Applied and Environmental Microbiology*, July, 3366-3370.

ROMA 22 Aprile 2009

IL PRESIDENTE DEL CNSA
(Dr. Aldo Grasselli)